

黄胫小车蝗受精囊内含物研究

何建平 奚耕思 路 健 魏宪辉

(陕西师范大学生命科学院, 西安 710062)

摘要: 用组织化学、亲和组织化学方法研究了黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* Saussure 交配前后受精囊内含物的化学组成。结果表明, 黄胫小车蝗受精囊内含物有蛋白质、脂类和碳水化合物。交配前后黄胫小车蝗受精囊腔及腺细胞中蛋白质、碳水化合物的含量有较大差异, 交配后的含量明显高于交配前的, 说明交配活动启动了受精囊腺细胞的分泌, 使受精囊腔及受精囊管中积聚大量的碳水化合物及蛋白质。交配前后受精囊脂类含量没有明显变化。用亲和组织化学方法对交配后受精囊进行染色分析, 表明受精囊腔内含物的碳水化合物、蛋白质主要以糖蛋白形式存在, 糖残基主要有半乳糖、甘露糖及 α -葡萄糖。

关键词: 黄胫小车蝗; 受精囊; 内含物; 组织化学; 亲和组织化学

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)01-0038-07

Contents of the spermatheca of the grasshopper *Oedaleus infernalis* Saussure (Orthoptera: Acrididae)

HE Jian-Ping, XI Geng-Si, LU Jian, WEI Xian-Hui (College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: The contents of the spermatheca of the grasshopper *Oedaleus infernalis* Saussure were assayed with histochemistry and affinity-histochemistry methods. Spermathecae before and after mating were stained with PAS, bromophenol blue and Sudan black B. The results showed that the contents of spermatheca included carbohydrates, proteins and lipids, and there were clear differences in these contents in gland cells and spermathecal lumen between spermathecae before and after mating. These contents were in higher content in spermathecae after mating than in those before mating. This suggested that mating stimulated secretion by gland cells and resulted in accumulation of carbohydrates and proteins in the spermathecal lumen and duct. However, the content of lipids shown with Sudan black B staining showed no distinct differences in spermathecae before and after mating. Affinity-histochemistry results indicated that carbohydrates and proteins in spermathecae were present most in the form of glycoproteins, and oligosaccharides of these glycoproteins consisted mainly of mannose, galactose and glucose.

Key words: *Oedaleus infernalis*; spermatheca; content; histochemistry; affinity-histochemistry

昆虫受精囊由雌性体内第8腹节腹板后缘体壁内陷而成, 是雌虫交配后储存和释放精子以及使卵子受精的器官, 对保持精子活性和卵子受精起着重要作用 (Lay *et al.*, 1999; Fritz and Turner, 2002; 何建平和奚耕思, 2003)。

大多数昆虫交配过程中, 雄性附性腺 (male accessory gland) 分泌物随精子进入受精囊, 与受精囊分泌物混合, 对存于其内精子的活性、变化及雌性产卵等起作用, 如飞蝗 *Locusta migratoria* 雄性分泌物

中的产卵刺激因子 (oviposition-stimulating factor) 可加速雌蝗产卵 (Lange and Loughton, 1985), 雄性分泌物中的多肽和蛋白质可促进输卵管收缩 (Paemen *et al.*, 1991; Yi and Gillott, 2000)。黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 雄性分泌物中的性肽控制卵子发生过程中卵黄的沉积, 促进卵子成熟 (Soller *et al.*, 1997)。但有关受精囊内含物成分及来源的研究甚少 (Lay *et al.*, 1999), 已知棉象鼻虫 *Anthonomus grandis* 受精囊分泌物对精子有吸引作用

(Villavaso, 1975; Grodner and Steffens, 1978), 蝗虫 *Chorthippus curtipennis* 受精囊分泌物对精囊有一定的降解作用(Hartmann and Loher, 1974), 泣黑背蝗 *Eyprepocnemis plorans* 受精囊内含物可使精子尾部发生改变(Giuffrida and Rosati, 1993)等,但这些物质的成分却不清楚。已有的组织化学研究表明,受精囊中含有碳水化合物和蛋白质(Ahmed and Gillott, 1982; De Carlo *et al.*, 1994; Schoeters and Billen, 2000);黑腹果蝇受精囊中含有脂类,而不含碳水化合物(Filosi and Perotti, 1975);飞蝗 *L. migratoria* 受精囊中有黄体酮标记的蛋白质(Paesen and De Loof, 1988)和肠动肽类似物(Lange, 1993)。我们以黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* Saussure 为材料,分别用高碘酸 Schiff 反应法(PAS)、汞-溴酚蓝、苏丹黑等组织化学染色方法以及亲和组织化学方法,研究了交配前后黄胫小车蝗受精囊中内含物的性质,以期为其来源和功能奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

黄胫小车蝗采自陕西西安长安区。将采集的 5 龄若虫、刚羽化的成虫及将要产卵的成虫分笼饲养于室内养虫箱中,饲以禾本科植物的叶子等。羽化后的成虫分两笼饲养,一笼仅养雌虫,另一笼与雄虫混养,等雌虫交配后再取出。分别选取交配前和交配后的雌虫各 10 只,解剖取出其受精囊备用。

1.2 方 法

受精囊取出后立即用 Bouin 液、Carnoy 液、中性甲醛液固定,脱水,石蜡包埋,切片(6~8 μm),贴片后烘干,再分别用 PAS、汞-溴酚蓝、苏丹黑以及亲和组织化学等方法染色,以显示交配前后受精囊内含物的不同组分。

1.2.1 PAS 法:碳水化合物染色用常规 PAS 法。对照组不经高碘酸,即复水后直接进入 Schiff 试剂处理,苏木精染色,盐酸酒精分色。

1.2.2 汞-溴酚蓝法:蛋白质染色采用加以改良的汞-溴酚蓝(Hgbpb)法,即染后用碱性水显色,入丙酮脱水。对照组常规脱蜡,入梯度酒精复水后,45℃ 1%胃蛋白酶消化 12 h 后再染色。

1.2.3 苏丹黑法:脂类染色采用苏丹黑法。对照组先经甲醇-氯仿-盐酸处理 18 h(脱脂),再经苏丹黑染色。

1.2.4 亲和组织化学法:(1)试剂:选用生物素标

记的伴刀豆凝集素(concanavalin agglutinin, Con A)、麦胚凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)和花生凝集素(peanut agglutinin, PNA)以及荧光素(异硫氰酸荧光素, FITC)标记的扁豆凝集素(lens culinaris agglutinin, LCA)(Sigma 公司),其结合的特异性糖基分别为甘露糖或葡萄糖、N-乙酰胺葡萄糖或唾液酸、半乳糖和甘露糖,所用浓度分别为 20、10、50 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 。试剂 SABC 及 DAB 显色试剂盒购自华美公司,Tris、 α -甘露糖、 α -葡萄糖、半乳糖及 N-乙酰胺葡萄糖等购自上海生物工程有限公司。

(2)FITC 标记的扁豆凝集素染色程序:切片经常规脱蜡,入梯度酒精复水至双蒸水,胰蛋白酶消化, TBS 缓冲液洗涤,滴加荧光素标记的扁豆凝集素孵育, TBS 缓冲液洗涤,甘油缓冲液封片,荧光显微镜观察并拍照。设 2 组对照:一组用 TBS 缓冲液替代凝集素;另一组在凝集素的工作液中加入甘露糖,作相应特异性糖的抑制剂。

(3)生物素标记的凝集素组织化学染色程序:切片脱蜡、消化步骤同前。经 TBS 缓冲液洗涤,滴加生物素标记的凝集素孵育, TBS 缓冲液洗涤, SABC 孵育, TBS 缓冲液洗涤, DAB 显色。显色充分后,入梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片。设 2 组对照:一组用 TBS 缓冲液替代凝集素;另一组在凝集素工作液中加入其特异性结合的糖抑制剂,即甘露糖或葡萄糖对伴刀豆凝集素, N-乙酰胺葡萄糖对麦胚凝集素,半乳糖对花生凝集素。

(4)特殊处理:在伴刀豆凝集素孵育前用葡萄糖氧化酶处理,使甘露糖染色;在麦胚凝集素孵育前用盐酸处理,使 N-乙酰胺葡萄糖染色。

1.3 染色结果分析处理

运用图像分析系统(江苏省捷达科技发展有限公司)对染色结果进行平均光密度测定,测定阳性反应的强弱,依据相对强度将阳性反应分为强(++++)、中(+++)、弱(++)和极弱(+) 4 个级别。

2 结果与分析

各种染色结果显示,黄胫小车蝗受精囊内含物成分有蛋白质、碳水化合物及少量的脂类,其中碳水化合物和蛋白质的含量在黄胫小车蝗交配前后有较大变化,而脂类含量在交配前后没有明显变化,相应对照组的染色结果均为阴性(表 1)。

2.1 碳水化合物

表 1 交配前后黄胫小车蝗受精囊内含物成分及其分布

Table 1 Contents of spermathecae of *Oedaleus infernalis* before and after mating and their distribution shown by degree of positive reaction

	交配前 Before mating				交配后 After mating			
	表皮层 Cuticular intima	真皮细胞层 Epidermis intima	腺细胞 Gland cell	囊腔内 Lumen	表皮层 Cuticular intima	真皮细胞层 Epidermis intima	腺细胞 Gland cell	囊腔内 Lumen
蛋白质 Proteins	+++	++	++	+	++++	+++	+++	++++
碳水化合物 Carbohydrates	+++	++	-	+	+++	++	+++	++++
脂类 Lipids	++	++	++	+	++	++	++	+
PNA					++++	++	+++	+
WGA					++	++	-	-
LCA					+++	+++	+++	+++
Con A					++	++	++	++
对照 CK	-	-	-	-	-	-	-	-

阳性反应强度 Degree of positive reaction : + + + + : 强 Strong ; + + + : 中等强度 Moderately strong ; + + : 弱 Weak ; + : 极弱 Very weak ; - : 阴性 Negative.

黄胫小车蝗交配后 ,受精囊各部结构都有 PAS 阳性反应 ,表皮层有强阳性反应 ,真皮细胞层、上皮细胞和腺细胞有 PAS 阳性反应 ,腺细胞中有明显的 PAS 阳性分泌物 (图版 I : 1) ;受精囊腔中含有极强的 PAS 阳性物质 ,受精囊管中碳水化合物的含量丰富。交配前受精囊的表皮层有中等强度的阳性表达 ,真皮细胞层的腺细胞有弱阳性表达 ,受精囊腔中有极弱的阳性表达。对照组为阴性 (图版 I : 3)。

2.2 蛋白质

交配后受精囊的各层细胞都表现出阳性反应 ,表皮层、基膜层呈均匀的蓝色 ,呈较强的阳性反应 ;真皮细胞层细胞亦呈阳性反应 ,着色不均匀 ,腺细胞中的分泌物呈现出明显的阳性反应 (图版 I : 2) ;受精囊腔内的分泌物呈现强阳性反应 ,呈深蓝色 ,分布均匀。交配前受精囊表皮层、真皮细胞层呈阳性反应 ,与交配后相比无显著变化。交配前的腺细胞中无阳性分泌颗粒 ,受精囊腔中阳性表达弱 ,这与交配后有明显差异。对照组全部呈阴性反应 (图版 I : 4)。

2.3 脂类

交配前与交配后 ,脂类的苏丹黑染色结果基本相同 ,受精囊各部结构均呈弱阳性反应 ,分泌管、小棘和表皮层的上表皮均有较强的阳性反应 ,受精囊腔中有极弱的阳性反应 (图版 I : 6)。对照组各层细胞均显阴性反应 (图版 I : 5)。

2.4 凝集素组织化学

分别用 4 种凝集素对交配后受精囊中的糖复合物成分进一步研究。

扁豆凝集素 :在受精囊的真皮细胞层的分泌导

管中有强荧光 ,表皮中的分泌小管中可看到荧光物质 (图版 II : 1) ;同时在受精囊腔中亦有明显的荧光 ,但比腺细胞中弱 (图版 II : 3) ;PAS 缓冲液、α-甘露糖对照组 ,均无荧光发生 (图版 II : 5)。说明阳性物质应为 α-甘露糖结合的糖复合物 ,糖复合物可能是由分泌细胞分泌 ,通过分泌导管分泌到受精囊腔中。

伴刀豆凝集素 :与扁豆凝集素结果基本相同 ,在真皮细胞层的分泌导管中有阳性表达 ,受精囊腔中有阳性物质 ,经葡萄糖氧化酶处理 ,无明显变化 ,仅染色稍弱 (图版 II : 2 , 4)。PBS 缓冲液、α-甘露糖和 α-葡萄糖对照组 ,均无阳性反应 (图版 II : 8)。说明糖复合物的末端糖残基主要为 α-甘露糖 ,有少量的 α-葡萄糖 ,并且是由分泌细胞分泌 ,经分泌导管分泌到受精囊腔中。

麦胚凝集素 :未经盐酸处理 ,在真皮细胞层细胞靠近表皮层处为阳性 ,受精囊腔中的物质为阴性反应 ,但精子束表面为阳性 (图版 II : 6)。经盐酸处理无变化。PBS 缓冲液和 N-乙酰胺葡萄糖对照组 ,均无阳性反应 (图版 II : 8)。结合超微观察的结果 (何建平等 2004) ,阳性物质应该正好处于真皮细胞层与表皮结合处的微绒毛区域 ,说明在真皮细胞层与表皮结合处的上皮细胞膜的糖复合物的糖链为 N-乙酰胺葡萄糖。

花生凝集素 :表皮层为强阳性反应 ,真皮细胞层细胞中有明显的阳性颗粒 ,受精囊腔中弱阳性 ,精子为强阳性反应 (图版 II : 7)。PBS 缓冲液和半乳糖对照组 ,均无阳性反应 (图版 II : 8)。说明受精囊腺细胞可分泌含有半乳糖基的分泌物 ,同时黄胫小车

蝗的精子表面有半乳糖基复合物。

3 讨论

本研究结果表明,黄胫小车蝗受精囊内含物在交配前后有较大差异。交配前,受精囊腔中几乎不含碳水化合物和蛋白质,真皮细胞层的腺细胞中亦无相应的分泌颗粒;交配后,受精囊的表皮层、真皮细胞层均有碳水化合物、蛋白质和脂类的阳性反应,但脂类为弱阳性,仅在分泌管和上表皮为强阳性反应。说明交配行为启动了受精囊的分泌功能,刺激受精囊和受精囊管中的腺细胞分泌,导致交配后的受精囊腔中含有大量的碳水化合物和蛋白质。但脂类含量在交配前后基本相同,可能是受精囊腺细胞分泌少量的脂类,或者是受精囊管中腺细胞分泌少量的脂类,在交配过程中随同精子运动进入受精囊腔,还可能是这些脂类属于雄性附性腺分泌物中的成分,随精子进入受精囊。Filosi 和 Perotti(1975)对黑腹果蝇受精囊的组织化学研究发现,苏丹黑染色呈阳性,PAS 染色呈阴性,推断受精囊内含物应是脂类物质。De Carlo 等(1994)研究地中海实蝇 *Ceratitis capitata* 后认为受精囊内含物是葡糖胺聚糖和糖蛋白。因此,受精囊中微弱的脂类物质的来源还有待进一步研究。

受精囊内含物中碳水化合物、蛋白质和脂类这 3 种成分以何种形式存在还存在争议。Filosi 和 Perotti(1975)认为是以脂蛋白形式存在,De Carlo 等(1994)则认为是葡糖胺聚糖和糖蛋白形式存在。结合亲和组织化学分析,我们认为除碳水化合物作为精子存活的主要能源物质外,碳水化合物与蛋白质还可能以复合物的形式存在,其中多数可能以糖蛋白的形式存在。糖蛋白的糖基主要有 α -甘露糖、 α -葡萄糖和半乳糖。

以往研究认为受精囊中碳水化合物和脂类主要是为精子在受精囊中的游动和代谢提供能量(Fritz and Turner, 2002),精子在受精囊中,虽不需剧烈的运动,但要有一定的游动性,必须保持活性,进行新陈代谢,所以必须有一定的能源物质,可能主要是碳水化合物。还有研究表明精子可以糖作为底物进行新陈代谢(Filosi and Perotti, 1975; Solinas and Nuzzaci, 1984; Schoeters and Billen, 2000),因此,碳水化合物在受精囊中起着很重要的作用,若没有碳水化合物,精子就失去了可利用的营养和能源物质,无法进行正常的新陈代谢,受精囊储存精子就毫无意义。此

外,从精子结构看,精子一般没有复杂的分解代谢能力,因此,脂类不大可能成为精子的营养物质。

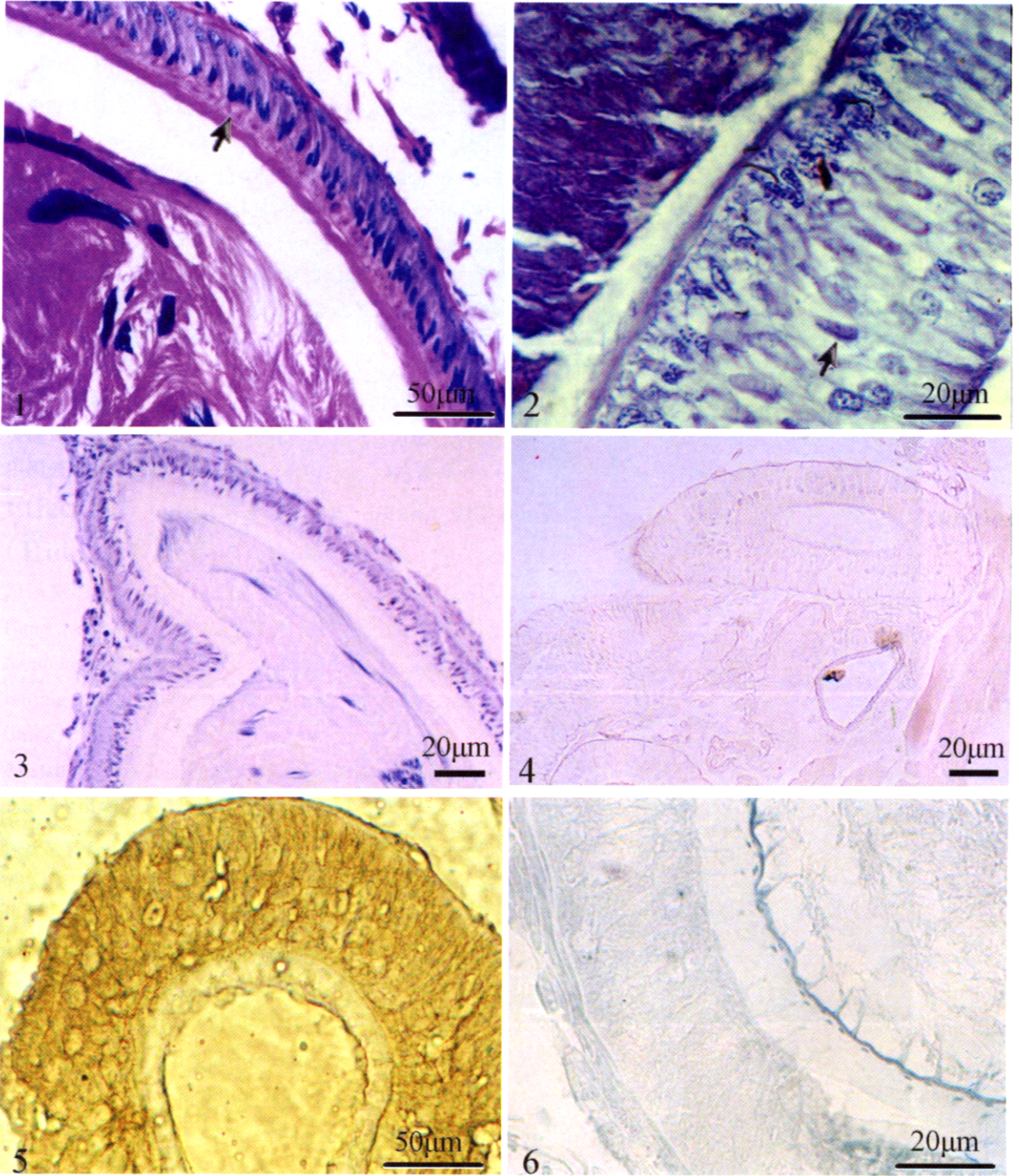
黄胫小车蝗受精囊腔中分泌物除了碳水化合物可作为精子的能源物质外,碳水化合物与蛋白质构成的复合物糖蛋白可能与精子的运动和受精过程中的变化有关。Giuffrida 等(1993, 1996, 1997)从泣黑背蝗受精囊内含物中提取了 35 kDa 糖蛋白,该糖蛋白在离体条件下可诱导精子鞭毛的改变,其糖基含有半乳糖和海藻糖,如果去掉糖基,则成为无活性的蛋白质。De Carlo 等(1994)在地中海实蝇受精囊中检测出葡糖胺聚糖和糖蛋白。黄胫小车蝗受精囊内含物的糖复合物的糖基有 α -甘露糖、 α -葡萄糖和半乳糖,而精子表面具有半乳糖和 N-乙酰胺葡萄糖糖基复合物。有研究证明,用蟋蟀受精囊内含物离体培养的精子可发生获能和顶体反应,精子在获能和顶体反应过程中,凝集素受体的分布发生改变(奚耕思等, 2002),故我们认为黄胫小车蝗精子获能和顶体反应可能与受精囊中糖复合物有关,但具体有何关系还需进一步研究。

参考文献 (References)

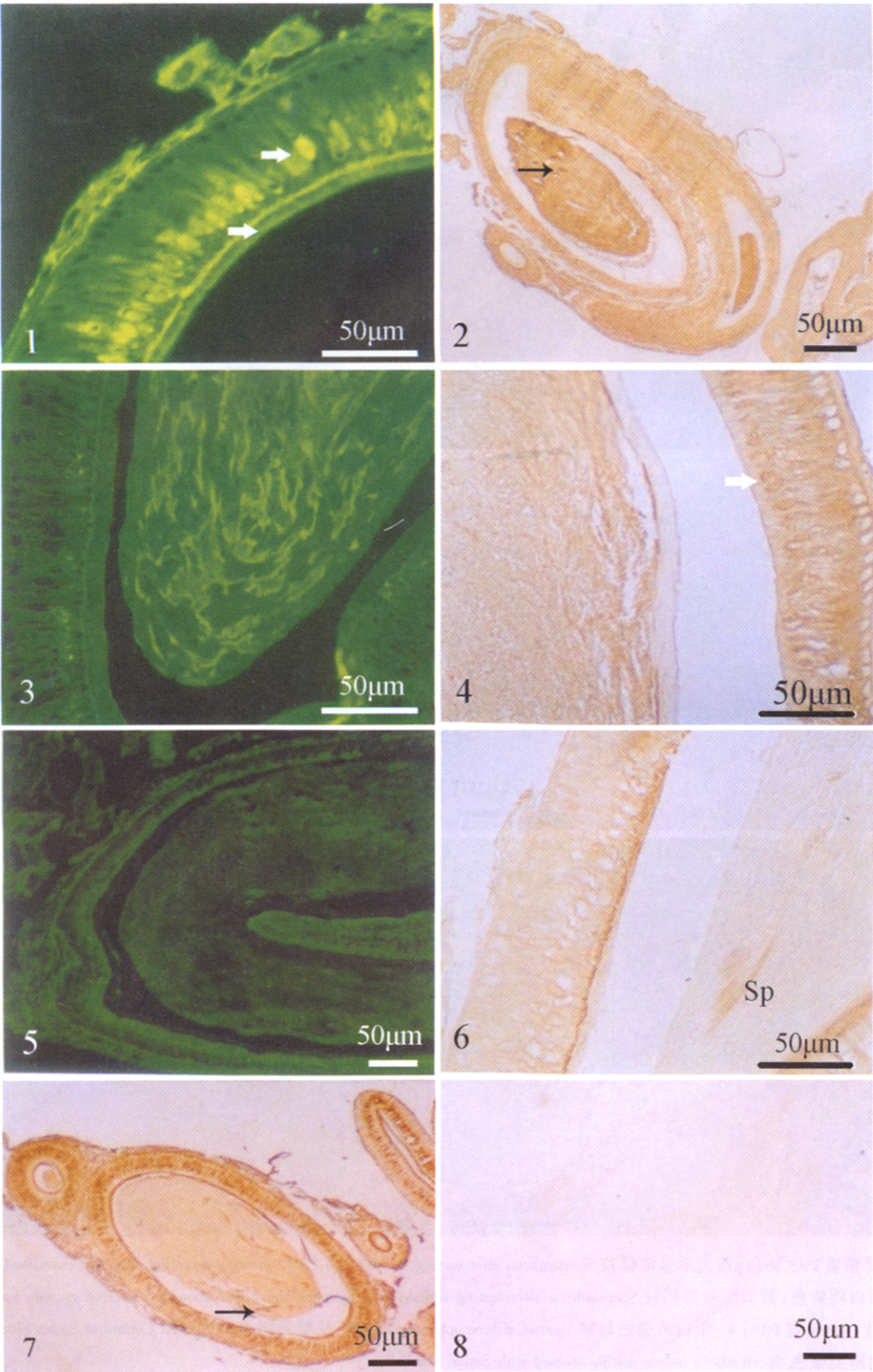
- Ahmed I, Gillott C, 1982. The spermatheca of *Melanoplus sanguinipes* (Fabr.). I. Morphology, histology, and histochemistry. *Int. J. Invertebr. Reprod.*, 4: 281–295.
- De Carlo JM, Pellerano GN, Martinez LI, 1994. Saco del oviducto medio de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae): consideraciones histofuncionales. *Physis*, 49: 19–45.
- Filosi M, Perotti ME, 1975. Fine structure of the spermatheca of *Drosophila melanogaster* Meig. *J. Submicrosc. Cytol.*, 7: 259–270.
- Fritz AH, Turner FR, 2002. A light and electron microscopical study of the spermathecae and ventral receptacle of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) and implications in female influence of sperm storage. *Arthropod Structure & Development*, 30: 293–313.
- Giuffrida A, Rosati F, 1993. Changes in sperm tail of *Eyreprocnemis plorans* (Insecta, Orthoptera) as a result of *in vitro* incubation in spermathecal extract. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 24(1): 47–52.
- Giuffrida A, Focarelli R, Lampariello R, Thole H, Rosati F, 1996. Purification and properties of a 35 kDa glycoprotein from spermathecal extract of *Eyreprocnemis plorans* (Insecta, Orthoptera) with axonemal cytoskeleton disassembly activity. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26(4): 347–354.
- Giuffrida A, Focarelli R, Lampariello R, Rosati F, 1997. Glycan chains play a role in the axonemal cytoskeleton disassembly activity of the 35 kDa glycoprotein of the spermathecal extract of *Eyreprocnemis plorans* (Insecta, Orthoptera). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27(4): 315–321.
- Grodner ML, Steffens WL, 1978. Evidence of a chemotactic substance in the spermathecal gland of the female boll weevil (Coleoptera:

- Curculionidae). *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 97(1): 116–120.
- Hartmann R, Loher W, 1974. Control of sexual behavior pattern 'secondary defense' in the female grasshopper *Chorthippus curtipennis*. *J. Insect Physiol.*, 20: 1713–1728.
- He JP, Xi GS, 2003. Structure and function of insect spermathecae. *Entomological Knowledge*, 40(5): 476–479. [何建平, 奚耕思, 2003. 昆虫受精囊的结构与功能. 昆虫知识, 40(5): 476–479]
- He JP, Xi GS, Ren YH, 2004. Ultrastructure of spermatheca in the grasshopper *Oedaleus infernalis* Saussure (Orthoptera: Acrididae). *Acta Entomol. Sin.*, 47(6): 725–731. [何建平, 奚耕思, 任耀辉, 2004. 黄胫小车蝗受精囊的亚显微结构. 昆虫学报, 47(6): 725–731]
- Lange AB, 1993. The association of proctolin with the spermatheca of the locust, *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.*, 39(6): 517–522.
- Lange AB, Loughton BG, 1985. An oviposition-stimulating factor in the male accessory reproduction gland of the locust, *Locusta migratoria*. *General and Comparative Endocrinology*, 57: 208–215.
- Lay M, Zissler D, Hartmann R, 1999. Ultrastructural and functional aspects of the spermatheca of the African migratory locust *Locusta migratoria migratorioides* (Reiche and Fairmaire) (Orthoptera: Acrididae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 28(4): 349–361.
- Paemen L, Schoofs L, Proost P, De Cock B, De Loof A, 1991. Isolation, identification and synthesis of Lom-AG-myotropin II, a novel peptide in the male accessory reproductive glands of *Locusta migratoria*. *Insect Biochem.*, 21: 243–248.
- Paesen G, De Loof A, 1988. The presence of a progesterone binding protein in spermathecae of the migratory locust, *Locusta migratoria migratorioides* R. & F. *Int. J. Invertebr. Reprod.*, 14(2–3): 267–277.
- Schoeters E, Billen J, 2000. The importance of the spermatheca duct in bumblebees. *J. Insect Physiol.*, 46: 1303–1312.
- Solinas M, Nuzzaci G, 1984. Functional anatomy of *Dacus oleae* Gmel. female genitalia in relation to insemination and fertilization processes. *Entomologica*, 19: 135–165.
- Soller M, Bownes M, Kubli E, 1997. Mating and sex peptide stimulate the accumulation of yolk in oocytes of *Drosophila melanogaster*. *Eur. J. Biochem.*, 243(3): 732–738.
- Villavaso EJ, 1975. The role of the spermathecal gland of the boll weevil, *Anthonomus grandis*. *J. Insect Physiol.*, 21: 1457–1463.
- Xi GS, Yang YH, Zheng ZM, 2002. Changes in distribution of LCA and Con A-binding glycoconjugates on cricket (*Teleogryllus emma*) sperm surface. *Acta Zool. Sin.*, 48(7): 125–130. [奚耕思, 杨月红, 郑哲民, 2002. 蟋蟀精子表面 LCA 及 Con A 结合糖复合物的分布变化. 动物学报, 48(7): 125–130]
- Yi SX, Gillott C, 2000. Effects of tissue extracts on oviduct contraction in the migratory grasshopper, *Melanopus sanguinipes*. *J. Insect Physiol.*, 46: 519–525.

(责任编辑: 黄玲巧)



1. 交配后受精囊 PAS 染色; 箭头示分泌颗粒 Spermatheca after mating stained with PAS, showing secretion granule (arrowhead); 2. 交配后受精囊蛋白质染色, 箭头示分泌颗粒 Spermatheca after mating stained with bromophenol blue, showing secretion granule (arrowhead); 3. PAS 对照 Control of PAS; 4. 蛋白质染色对照 Control of bromophenol blue; 5. 受精囊脂类染色对照 Control of Sudan black B; 6. 交配前受精囊脂类染色 Spermatheca before mating stained with Sudan black B.



1. 受精囊的 LCA 染色, 示真皮细胞层分泌导管中的分泌颗粒(箭头)及表皮层分泌小管中的荧光 Spermatheca after mating stained with LCA, showing secretion granule of secretion ductile in epidermis cell (arrowhead) and fluorescence of secretion ductile in cuticular intima; 2. 受精囊的 Con A 染色, 示受精囊腔中精子(箭头)的阳性反应 Spermatheca after mating stained with Con A, showing positive reaction of sperms (arrowhead) in spermathecal lumen; 3. 受精囊腔的 LCA 染色, 示受精囊腔中的荧光 Spermathecal lumen stained with LCA, showing fluorescence inside lumen; 4. 受精囊的 Con A 染色, 示真皮细胞层分泌导管中的分泌颗粒(箭头) Spermatheca after mating stained with Con A, showing secretion granule of secretion ductile in epidermis cell (arrowhead); 5. 受精囊 LCA 染色的对照 Control of LCA dye; 6. 受精囊的 WGA 染色, 示受精囊腔中精子(Sp)的阳性反应 Spermatheca after mating stained with WGA, showing positive reaction of sperms (Sp) in spermathecal lumen; 7. 受精囊 PNA 染色, 示精子的阳性反应(箭头) Spermathecal stained with PNA after mating, showing positive reaction of sperms in spermathecal lumen (arrowhead); 8. 凝集素组织化学对照 Control experiment of lectin-histochemistry.